

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Odontología

Departamento de estomatología III



LA INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL EN LA VASODILATACION ENDOTELIAL, EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR. UN ESTUDIO PILOTO DE 3 MESES.

JAVIER PACIOS QUIROGA

Tutorizado por Bettina Alonso

Índice

Introducción	2
1. Las enfermedades periodontales: Periodontitis	2
2. Las enfermedades cardiovasculares	4
3. Relación entre enfermedad cardiovascular y enfermedad periodontal	5
4. El tratamiento de la enfermedad periodontal	10
Justificación	11
Hipótesis	11
Objetivos	12
Material y métodos	12
1. Tipos de estudio	12
2. Selección de la de la población	12
3. Selección de la muestra	12
4. Cálculo del tamaño muestral	13
5. Enmascaramiento	13
6. Aleatorización	13
7. Intervención	13
8. Seguimiento	14
9. Recogida de datos	14
10. Análisis estadístico	15
Resultados	16
Discusión	20
Conclusiones	21
Bibliografía	23

Introducción

En la actualidad, las líneas de investigación están intentado demostrar la influencia del estado oral sobre la salud general, ya que, de ser así, el control de la infección oral es esencial en la prevención y el manejo de las patologías sistémicas.

En los últimos años, se ha visto relación entre la enfermedad periodontal y distintas enfermedades sistémicas como la diabetes, la enfermedad cardiovascular, enfermedades pulmonares, osteoporosis, incluso el parto prematuro, la preclamsia, y el bajo peso en el nacimiento. (1-4)

1. Las enfermedades periodontales: Periodontitis

Las periodontitis son un grupo de enfermedades de naturaleza infecciosa-inflamatoria, caracterizadas por la destrucción de los tejidos de soporte del diente (5). Si no se trata adecuadamente, la enfermedad puede progresar y llevar a la pérdida dentaria, con las consiguientes implicaciones estéticas, sistémicas y funcionales (6).

Según la Academia Americana de Periodoncia en el *“International workshop for a classification of periodontal diseases and conditions”* de 1999, las periodontitis son enfermedades caracterizadas por la pérdida de hueso, la pérdida de inserción clínica, la presencia de bolsas periodontales y la inflamación gingival (7). Dentro del grupo de las periodontitis, las más importantes son la periodontitis crónica y la periodontitis agresiva. La periodontitis agresiva se caracteriza por una rápida pérdida de inserción y destrucción ósea, la agregación familiar y el hecho de que los pacientes están sistémicamente sanos (8). Por otro lado, la periodontitis crónica se caracteriza por una mayor prevalencia en adultos, por la correlación entre el grado de afectación y los factores irritativos locales, una lenta o moderada progresión (aunque existe la posibilidad de periodos de rápida progresión), la presencia de factores predisponentes locales, la posibilidad de asociación a enfermedades sistémicas y que se trata de una patología modificable por otros factores como el estrés o el tabaco. Podemos clasificar las periodontitis crónicas según su severidad (leve con 1-2 mm de pérdida de inserción, moderada con 3-4 mm de pérdida de inserción y severa con más de 5 mm de pérdida de inserción) y su extensión (localizada si afecta a menos de un 30% de la dentición y generalizada si afecta a más de un 30%) (9) (Figura 1)

<ul style="list-style-type: none"> II. Chronic Periodontitis† <ul style="list-style-type: none"> A. Localized B. Generalized III. Aggressive Periodontitis† <ul style="list-style-type: none"> A. Localized B. Generalized IV. Periodontitis as a Manifestation of Systemic Diseases <ul style="list-style-type: none"> A. Associated with hematological disorders <ul style="list-style-type: none"> 1. Acquired neutropenia 2. Leukemias 3. Other B. Associated with genetic disorders <ul style="list-style-type: none"> 1. Familial and cyclic neutropenia 2. Down syndrome 3. Leukocyte adhesion deficiency syndromes 4. Papillon-Lefèvre syndrome 5. Chediak-Higashi syndrome 6. Histiocytosis syndromes 7. Glycogen storage disease 8. Infantile genetic agranulocytosis 9. Cohen syndrome 10. Ehlers-Danlos syndrome (Types IV and VIII) 11. Hypophosphatasia 12. Other C. Not otherwise specified (NOS) V. Necrotizing Periodontal Diseases <ul style="list-style-type: none"> A. Necrotizing ulcerative gingivitis (NUG) B. Necrotizing ulcerative periodontitis (NUP) VI. Abscesses of the Periodontium <ul style="list-style-type: none"> A. Gingival abscess B. Periodontal abscess C. Pericoronal abscess 	<ul style="list-style-type: none"> VII. Periodontitis Associated With Endodontic Lesions <ul style="list-style-type: none"> A. Combined periodontic-endodontic lesions VIII. Developmental or Acquired Deformities and Conditions <ul style="list-style-type: none"> A. Localized tooth-related factors that modify or predispose to plaque-induced gingival diseases/periodontitis <ul style="list-style-type: none"> 1. Tooth anatomic factors 2. Dental restorations/appliances 3. Root fractures 4. Cervical root resorption and cemental tears B. Mucogingival deformities and conditions around teeth <ul style="list-style-type: none"> 1. Gingival/soft tissue recession <ul style="list-style-type: none"> a. facial or lingual surfaces b. interproximal (papillary) 2. Lack of keratinized gingiva 3. Decreased vestibular depth 4. Aberrant frenum/muscle position 5. Gingival excess <ul style="list-style-type: none"> a. pseudopocket b. inconsistent gingival margin c. excessive gingival display d. gingival enlargement (See I.A.3. and I.B.4.) 6. Abnormal color C. Mucogingival deformities and conditions on edentulous ridges <ul style="list-style-type: none"> 1. Vertical and/or horizontal ridge deficiency 2. Lack of gingiva/keratinized tissue 3. Gingival/soft tissue enlargement 4. Aberrant frenum/muscle position 5. Decreased vestibular depth 6. Abnormal color D. Occlusal trauma <ul style="list-style-type: none"> 1. Primary occlusal trauma 2. Secondary occlusal trauma
--	--

Figura 1. Clasificación de las enfermedades periodontales. Esquema de Armitage, G.C., 1999. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), pp.1–6.

A finales del 2017, se presentará la nueva clasificación mundial de las enfermedades periodontales.

La **prevalencia** de las periodontitis es muy elevada en los países desarrollados. A nivel mundial la periodontitis severa es la sexta condición patológica más frecuente, afectando al 11,2% de la población global. Las enfermedades periodontales afectan a un 57,3% de la población mundial, siendo la principal causa de la pérdida dentaria en adultos (10)

Según la Encuesta Nacional de Salud en España en 2006, cerca del 40% de las personas entre 65-74 años tendrían periodontitis, y en el grupo entre 35-44 años la proporción sería superior al 25%. En otra encuesta de salud oral realizada en España, se encontró que el 38,4% de los sujetos presentaban periodontitis, aumentando dicha prevalencia en hombres, estratos sociales bajos, tabaco y edades avanzadas. En los sujetos de más de 55 años, este porcentaje ascendía a un 65,1% (11). Según la Encuesta Nacional de Salud de 2010, solo el 16% de los adultos jóvenes y el 6% de los adultos mayores se encuentran libres de patología periodontal(12)

La periodontitis está causada, en primera instancia, por el componente bacteriano presente en **el biofilm dental**, sin embargo, es también importante la respuesta del huésped a esta agresión bacteriana, así como los factores de riesgo adquiridos y del comportamiento (tabaco, estrés...) y sistémicos (enfs sistémicas, componente genético).

Es esta interacción multifactorial la que determina la edad de aparición, la tasa de progresión y la severidad de la periodontitis. (13,14)

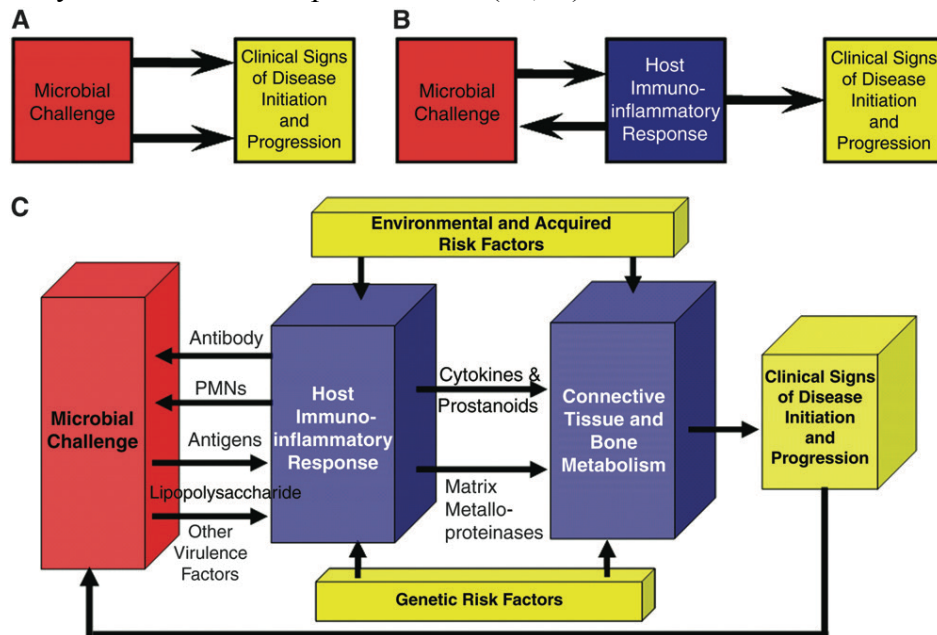


Figura 2. Patogenia de la enfermedad periodontal. Esquema de Kornman, K.S., 2008. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *Journal of Periodontology*, 79(8 Suppl), pp.1560–1568.

Los **síntomas** más frecuentes de la periodontitis crónica son un cambio de color, textura y forma de la encía, con la presencia de sangrado al sondaje, espontáneo o al cepillado. También viene acompañado con un aumento de la profundidad de las bolsas periodontales y una pérdida de inserción periodontal, con presencia de recesiones gingivales. Debido a la pérdida de hueso alveolar es común la exposición de furcas dentarias, el aumento de la movilidad y el desplazamiento dentario, llevando a la pérdida dentaria.(13)

2. Las enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares más comunes son la insuficiencia cardíaca, la cardiopatía isquémica (angina de pecho, infarto de miocardio), la enfermedad cerebrovascular isquémica y la enfermedad arterial periférica. (15). Estas patologías cardiovasculares suponen la primera causa de muerte y hospitalización de la población española, produciendo más de 125.000 muertes al año (16).

La **ateroesclerosis**, o la formación de la placa de ateroma, supone el inicio de la mitad de las enfermedades cardiovasculares (17). La manifestación más común de la aterosclerosis es la **cardiopatía isquémica**, se da cuando las arterias coronarias se obstruye de forma parcial (isquemia miocárdica) o total (angina o infarto agudo de miocardio).

La formación de la placa de ateroma comienza con la expresión de moléculas de adhesión por el endotelio vascular, como la molécula de adhesión a la célula vascular 1 (VCAM-

1). Se produce la adhesión de monocitos y linfocitos T que posteriormente penetran en la capa íntima arterial. Es aquí donde se produce la conversión de monocitos a macrófagos mediada por la acción del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) y empiezan a captar lipoproteínas. La propia M-CSF es la que regula la apoptosis en el núcleo de la placa de ateroma (18).

La rotura de la placa de ateroma y su posterior oclusión trombótica es la causante, la mayoría de las veces, de los síndromes coronarios agudos, pudiendo ser también causada por la propia oclusión generada por la placa de ateroma(17).

Podemos identificar distintos factores de riesgo que contribuyen a la aparición de esta patología, algunos no modificables como la edad, la raza o la historia familiar de aterosclerosis (factores genéticos) y modificables (factores ambientales), como el sedentarismo, la diabetes mellitus, la dislipidemia, la hipertensión, el sobrepeso o el tabaco (19)

3. Relación entre enfermedad cardiovascular y enfermedad periodontal

En los últimos quince años un importante número de estudios epidemiológicos han investigado la posible asociación entre las enfermedades periodontales y las cardiovasculares (20,21), apoyando la hipótesis de que las periodontitis pueden conferir un riesgo independiente en el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares. Al ser dos enfermedades cuya prevalencia e impacto en la población tienen una gran importancia, la búsqueda de una relación entre ellas ha despertado gran interés en la comunidad científica odontológica y médica.

Las enfermedades inflamatorias crónicas como la periodontitis crónica se caracterizan por la acumulación de mediadores inflamatorios a nivel sistémico y un estado de estrés oxidativo con repercusiones en todo el organismo (22). Esta inflamación sistémica juega un papel muy importante en el desarrollo de aterosclerosis. (18)

Se han propuesto tres mecanismos que relacionan la enfermedad periodontal y la enfermedad cardiovascular: bacteriano, inflamatorio e inmune (plausibilidad biológica).

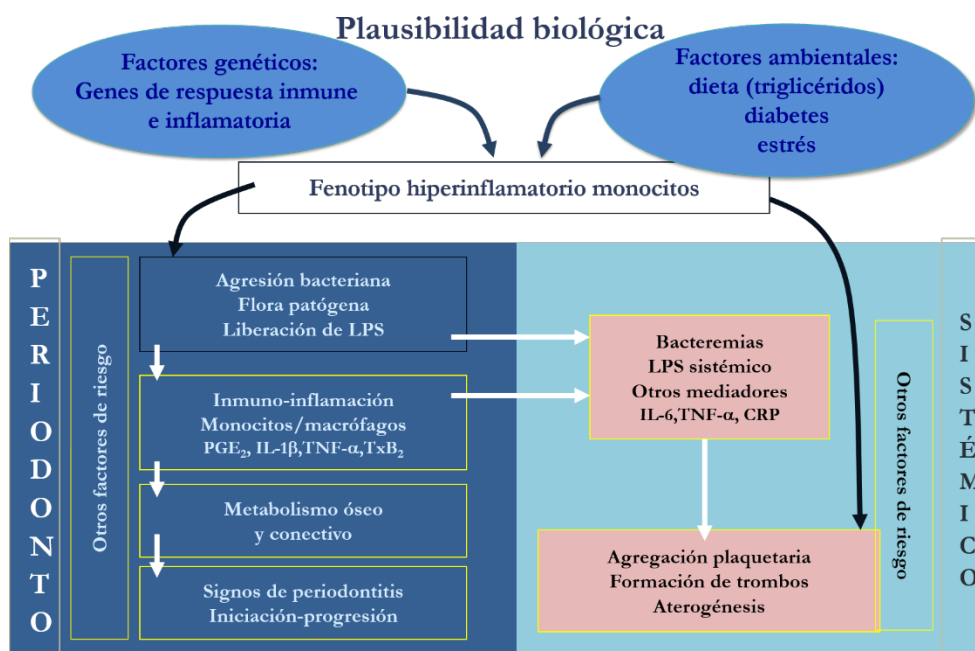


Figura 3. Plausibilidad biológica de la asociación entre la enfermedad periodontal y la enfermedad cardiovascular

Las bacterias periodontales en contacto con el epitelio ulcerado de la bolsa periodontal pueden pasar a la corriente sanguínea, especialmente tras el cepillado (23). Dentro de los periodontopatógenos destacan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*. *P. gingivalis* es una bacteria patógena del biofilm dental con potencial de acción sistémico; se ha demostrado en modelos animales que es capaz de penetrar en el endotelio y contribuir al proceso inflamatorio de la aterosclerosis. (24). En otro estudio in vitro se ha visto que *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* llegan de manera conjunta en un 61,9% de las placas de ateroma en humanos sometidos a una endarterectomía. (25). Se llega a la conclusión de que las bacterias gingivales pueden pasar al torrente sanguíneo y de ahí viajar a sitios más distantes como las arterias periféricas o las placas de ateroma. (26).

La enfermedad periodontal puede originar un estado de inflamación sistémica (22), en la que se produce liberación de biomarcadores como la proteína C reactiva (CRP), en respuesta a las señales derivadas de los macrófagos e interleuquina 6 (IL-6), como parte de la respuesta inmune innata contra la infección bacteriana (27). Existen estudios que relacionan la liberación de estos mediadores con la enfermedad periodontal (28), así como el aumento de los mismos en plasma en periodontitis crónica (19). La pared endotelial responde al estrés, con una mayor liberación de óxido nítrico, provocando vasodilatación. Se ha descrito que IL-6, TNF-alfa y CRP disminuyen la disponibilidad de mRNA de óxido nítrico (24)

Algunas personas poseen un fenotipo hiperreactivo de macrófago, que contribuye a la producción de gran cantidad de mediadores inflamatorios. Estos individuos presentan un mayor riesgo de enfermedad periodontal y de disfunción endotelial. (24)

Por otro lado, las proteínas de choque térmico o Heat Shock Proteins (HSP) se tratan de moléculas protectoras que ayudan a contrarrestar el daño producido por el estrés hemodinámico. (24). Ciertas bacterias periodontales producen HSP bacteriano, homólogo al del hospedador, y desencadenan una respuesta inmune mediada por los linfocitos T que afecta tanto a las HSP propias como bacterianas (19)

La primera evidencia la aportan estudios clásicos que encuentran asociación positiva entre distintas infecciones crónicas y sus mediadores inflamatorios con enfermedades coronarias (29). Mattila et al en 1989 ya investiga las enfermedades cardiovasculares en relación con la salud oral, encontrando una peor salud dental en pacientes que sufren un infarto de miocardio (30). Di Stefano et al en 1993 realiza un estudio de cohortes en el que encuentran un riesgo relativo de 1.23 para enfermedad periodontal y enfermedad coronaria (31). Otro estudio importante fue el de Joshipura et al, en 1996, que encuentra relación entre las enfermedades coronarias y la pérdida dentaria en pacientes con periodontitis (29).

En los últimos años, diversas publicaciones añaden evidencia significativa en la relación entre la patología cardiovascular y la enfermedad periodontal que complementan los hallazgos de estos estudios clásicos. Un buen ejemplo es el workshop conjunto de la Asociación América de Periodoncia (AAP) y la Federación Europea de Periodoncia (EFP) en 2013, el cual concluye que la periodontitis aumenta el riesgo de sufrir aterosclerosis. Un estudio reciente, Calapkorur et al 2016 determina que la enfermedad periodontal supone un OR de 5,84 para sufrir aterosclerosis (32).

Evidencia de la asociación periodontitis e infarto agudo de miocardio

3.1 Modelos experimentales

Existen estudios preclínicos que buscan explicar esta asociación entre aterosclerosis y enfermedad periodontal, tanto en animales como humanos in vitro.

Tres estudios investigaron la formación de aterosclerosis en ratones deficientes de apolipoproteína E, una molécula que se administra con el fin de aumentar la permeabilidad de las células endoteliales, a los que se inocula *P. gingivalis*. Todos ellos presentan asociación positiva entre *P. gingivalis* y formación de lesiones ateroscleróticas. (33-35)

Brodala et al 2005 estudiaron la aparición de aterosclerosis en cerdos con niveles altos de colesterol a los que se les administra *P. gingivalis*, obteniendo el mismo resultado que en los estudios basados en ratones. (36)

Chou et al 2005 realizaron un estudio humano in vitro, que encuentra un aumento de expresión de moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1) y citoquinas proinflamatorias (IL-6 e IL-8) en las células endoteliales aórticas, tras exposición a *P. gingivalis* (37).

Hayashi et al 2010 encontraron *A. actinomycetemcomitans* en placas de ateroma de ratones, viendo un aumento de lipopolisacáridos, proteína C reactiva y aumento de la expresión de los receptores Toll-like.

Los resultados de estos estudios experimentales en animales y en humanos confirman que la presencia de bacterias orales podría favorecer la formación de lesiones ateroscleróticas, lo que incrementaría el riesgo de desarrollo y progresión de enfermedad cardiovascular.

3.2 Estudios observacionales

Se han llevado a cabo gran número de estudios observacionales que podemos encontrar resumidos en diversos meta-análisis ((38-40)(41)):

Bahekar et al. 2007, en el meta-análisis de 5 estudios prospectivos, encuentran que los individuos con periodontitis tienen 1.14 veces más riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular que los controles (38)

Humphrey et al. 2008 examinan una serie de 7 estudios de cohortes en una revisión sistemática con meta-análisis, con un seguimiento entre 5-21 años y llegan a la conclusión de que la periodontitis es un factor de riesgo independiente de los factores cardiovasculares, con un riesgo relativo de 1.24, algo bajo al corregir otros factores de riesgo.(39)

Blaizot et al. 2009, en un meta- análisis que incluye pacientes con infarto agudo de miocardio, pero también con otras formas de presentación de la cardiopatía isquémica obtuvieron un odds ratio para el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular en pacientes con periodontitis de 2.35 (IC95%:1.87-2.96), y un riesgo relativo de 1.34. (IC 95%: 1.27-1.42) (40).

Zeng et al. 2016, en el más reciente de los meta-análisis, analizaron 15 estudios observacionales, encontrando un mayor riesgo para aterosclerosis en pacientes periodontales; en concreto, un odds ratio de 1,10 para periodontitis moderada y de 1,14 para formas severas. (41)

En estas publicaciones se observan asociaciones débiles, aunque significativas entre ambas patologías, siendo mayores en individuos jóvenes con un mayor grado de severidad de la enfermedad periodontal. El último consenso de la Federación Europea de Periodoncia sobre periodontitis y enfermedad cardiovascular aterosclerótica concluyó, en base a la evidencia disponible hasta el momento, que los sujetos con periodontitis presentan un riesgo significativamente mayor de padecer enfermedad cardiovascular aterosclerótica. Este riesgo es especialmente mayor para patología cerebrovascular, y se encuentra aumentado en varones e individuos jóvenes. Además, se estableció que este

riesgo añadido es independiente de otros factores de riesgo establecidos para enfermedad cardiovascular (42)

Existen factores de riesgo compartidos por ambas patologías, tales como el tabaquismo, la obesidad, la diabetes y el nivel socio-económico que podrían sesgar el resultado de estas publicaciones. Sin embargo, la mayoría de los estudios analizados presentan ajustes para estos factores. (39,43).

3.3 Estudios de intervención

No existen en la literatura ensayos clínicos que validen la periodontitis como un factor de riesgo independiente para el inicio o progresión de la enfermedad coronaria. Esto es debido al gran coste que supondría realizar este tipo de estudios, debido a que sería necesaria una muestra muy grande y amplios periodos de seguimiento. Además, supondría un grave problema ético dejar sin tratar pacientes con periodontitis durante un tiempo prolongado.

Sin embargo, se han podido realizar estudios de intervención en los cuales la enfermedad periodontal es tratada, ya sea de manera preventiva o intensiva. En estos estudios se usan variables subrogadas para evaluar la enfermedad cardiovascular.

Las variables más utilizadas son la proteína C reactiva y la vasodilatación endotelial.

- **La vasodilatación endotelial (VDE):** el endotelio vascular es el tejido que cubre la zona interna de todos los vasos sanguíneos, ejerciendo distintas funciones; la regulación del tono vascular mediante el óxido nítrico, la prevención de trombosis y la regulación de la relación entre el vaso sanguíneo y las plaquetas. La disfunción endotelial es la primera manifestación de enfermedad cardiovascular y ha sido relacionada con un aumento de eventos adversos cardiovasculares. (19). Se ha demostrado que los pacientes con disfunción endotelial presentan mayor número de accidentes cardiovasculares después de ajustar variables como edad, sexo, diabetes, presión arterial, tabaco, colesterol (44).

La vasodilatación endotelial sirve como medida de la funcionalidad y la integridad de la pared vascular, que responde ante estímulos con factores capaces de regular el tono vascular, la adhesión celular o la inflamación de la pared vascular entre otros. En caso de disfunción la arteria perdería esta capacidad y presentaría menores variaciones de tono (45).

Elter et al. 2006 realizaron un estudio piloto sobre 22 pacientes, encontrando menores niveles de marcadores sistémicos (interleuquina-6 y proteína C reactiva) y una mejor función vascular en pacientes periodontales sometidos a tratamiento periodontal básico respecto a las variables iniciales. (46)

Tonetti et al. 2007 realizaron un estudio sobre 120 pacientes encontrando mejoras significativas tras el tratamiento periodontal en la vasodilatación endotelial de pacientes con periodontitis (28)

Orlandi et al. 2014, realizaron un meta-análisis que asocia la enfermedad periodontal con las variables subrogadas; el espesor carotideo y la dilatación endotelial mediada por flujo, analizando tres ensayos clínicos y tres observacionales. Según este meta-análisis, los pacientes con enfermedad periodontal poseen una función endotelial disminuida, que mejora después de realizar tratamiento periodontal básico.(47)

La arteria braquial no suele presentar aterosclerosis, sin embargo, los autores consideran que la medida de la vasodilatación endotelial en este punto es reproducible y puede correlacionarse con la función arterial coronaria (48). Otros autores realizan esta medición mediante la perfusión de acetilcolina o con la administración de nitroglicerina sublingual. (49)

- **La proteína C Reactiva (CRP):** se trata del biomarcador inflamatorio más utilizado en los últimos años debido a que se ha demostrado que los niveles aumentados de esta proteína pueden actuar como predictor de eventos cardiovasculares adversos en personas sanas (18). Es una proteína producida especialmente a nivel hepático, aunque también puede sintetizarse a nivel endotelial, en caso de inflamación, como parte de la respuesta inmunitaria innata. (50). Incluso se ha descrito que actúa activamente reduciendo la disponibilidad de óxido nítrico en el endotelio afectando a la función del endotelio vascular (24).

4. El tratamiento de la enfermedad periodontal

El tratamiento periodontal fundamentalmente busca controlar la infección, restaurar y recuperar en lo posible los tejidos periodontales perdidos por la enfermedad y, especialmente, preservar a largo plazo la dentición. (13)

Podemos dividir el tratamiento periodontal en varias fases:

- **Fase sistémica:** en la que se busca eliminar o disminuir la influencia de las condiciones sistémicas en los resultados del tratamiento.
- **Fase higiénica:** Esta fase incluye las instrucciones de higiene oral, la tartrectomía supragingival y el raspado y alisado radicular, con el objetivo de conseguir reducir o eliminar la placa bacteriana y los factores retentivos locales. En concreto, el raspado y alisado radicular, consigue una reducción de los signos clínicos y de los síntomas periodontales y una mejoría clínica y microbiológica. (51,52). Quirynen et al 1995 contempla la posibilidad de realizar el tratamiento periodontal en 24 horas, junto con el uso de clorhexidina a nivel subgingival y el medio oral a fin

de mejorar los resultados del tratamiento, (53). Sin embargo, se ha demostrado que la terapia convencional y el protocolo “Full Mouth” de Quirynen et al. 1995 son igualmente eficaces (54). El uso de antisépticos como la clorhexidina puede mejorar los resultados del tratamiento tanto a nivel clínico como microbiológico (55).

- **Fase quirúrgica:** tras realizar una reevaluación de la situación periodontal del paciente 4-6 semanas después del tratamiento higiénico, se valora si es necesario realizar un tratamiento quirúrgico adicional para mejorar el pronóstico.
- **Fase de mantenimiento:** a fin de evitar la recurrencia de la enfermedad periodontal

El tratamiento periodontal ha demostrado ser capaz de reducir la inflamación, tanto a nivel local (56), como sistémico (22), por lo que nos preguntamos si sería capaz de mejorar la función endotelial y ser beneficioso desde un punto de vista cardiovascular.

Existen distintos estudios y meta-análisis que han investigado esta relación, encontrando diferencias significativas, pero destaca la poca cantidad y la heterogeneidad de los estudios presentes (28,47)

Es especialmente relevante, por su diseño y por su importancia, el ensayo clínico publicado por Tonetti et al. (2007), en el que el grado de mejora de la función vascular se asoció significativamente con el grado de mejora de los parámetros periodontales, que en el grupo de tratamiento intensivo fueron significativamente mejores que el grupo de tratamiento control (28). Sin embargo, en este estudio no se tiene en cuenta el riesgo cardiovascular previo de los pacientes incluidos, ya que sería lógico pensar que los sujetos que más se van a beneficiar del tratamiento son aquellos en la función cardiovascular está alterada previamente. Esto ha sido llevado a cabo por Offenbacher et al 2009, aunque sin realizar mediciones de VDE (57). Por otro lado, todos estos estudios realizados sobre pacientes con riesgo cardiovascular presentan un limitado periodo de seguimiento (6 meses), por lo que sería razonable realizar estudios con un seguimiento más extenso.

Justificación

En este estudio, se busca esclarecer si el tratamiento de la periodontitis dirigido a erradicar o disminuir los niveles de *A. actinomycetemcomitans*, y *P. gingivalis* podría tener un efecto beneficioso en la función cardiovascular de pacientes con enfermedad cardiovascular establecida, tanto a corto como a largo plazo.

Hipótesis

El tratamiento periodontal básico, dirigido a reducir los niveles de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* a nivel subgingival, es capaz de mejorar la función cardiovascular evaluada a través de la vasodilatación endotelial medida en la arteria

(variable subrogada), en pacientes con periodontitis crónica y con enfermedad cardiovascular establecida.

Objetivos

7.1 Objetivo general

Investigar si el tratamiento periodontal básico modifica la función cardiovascular en pacientes con enfermedad cardiovascular establecida.

7.2 Objetivo específico

Confirmar que el tratamiento periodontal básico (raspado y alisado radicular con anestesia) mejora los parámetros clínicos periodontales de los pacientes en comparación con el grupo control, a lo largo del periodo de seguimiento.

Material y métodos

1. Tipos de estudio

Se trata de un estudio piloto de 3 meses de un ensayo clínico aleatorizado doble ciego en el que se examina un grupo de pacientes con enfermedad periodontal moderada – avanzada generalizada (profundidades de sondaje superiores a 5 mm en al menos el 50% de los dientes y pérdida ósea generalizada) y enfermedad cardiovascular establecida.

2. Selección de la de la población

Pacientes procedentes del Servicio de Cardiología del Hospital Severo Ochoa de Leganés, que acudían de forma secuencial a la unidad de Rehabilitación Cardíaca por padecer enfermedad cardiovascular establecida. A estos pacientes se les realizó una exploración periodontal completa, a cargo de dos periodoncistas experimentados de la Facultad de Odontología de la UCM, seleccionando aquellos pacientes con periodontitis crónica moderada/avanzada generalizada.

3. Selección de la muestra

Criterios de inclusión

- Pacientes con enfermedad cardiovascular establecida: antecedentes de síndrome coronario agudo (angor inestable o infarto) en los 3 a 12 meses previos, con fracción de eyección ventricular izquierda $\geq 50\%$.
- Diagnóstico de periodontitis crónica moderada/avanzada generalizada: profundidades de sondaje superiores a 5mm y pérdida ósea marginal superior al 30% en al menos el 50% de los dientes (Tonetti et al. 2007).
- Presencia de al menos 3 dientes por cuadrante.

Criterios de exclusión

- Pacientes que hayan recibido tratamiento periodontal en el último año.
- Toma de antibióticos en los 3 meses previos al estudio.
- Fumadores de 10 o más cigarrillos al día.
- Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
- Diabetes mellitus tipo I, o tipo II con valores de hemoglobina glicosilada > 7 .
- Enfermedades periodontales necrosantes.
- Infección por VIH.
- Toma crónica de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos.

4. Cálculo del tamaño muestral.

En base a los resultados presentados en el estudio de Tonetti et al. 2007, se pretende encontrar una diferencia del 1% en la VDE entre ambos grupos, con una desviación estándar del 1,67%, con un riesgo alfa del 5% y una potencia del 90%. Esto implica un tamaño muestral de 48 pacientes por grupo, 96 pacientes en total. Para compensar posibles pérdidas, así como para compensar el ajuste por factores de confusión en pacientes con enfermedad cardiovascular previa, se seleccionarán 120 pacientes (20% más).

5. Enmascaramiento

El enmascaramiento a triple ciego fue llevado a cabo por:

- Examinadores (variables periodontales y cardiovasculares): los examinadores fueron personas diferentes a los operadores, de tal forma, que desconocían el tratamiento que habían recibido los pacientes.
- Analista: la información se aportó con los nombres de los grupos ocultos.
- Los pacientes, durante el tratamiento, no sabían a qué grupo estaban asignados.

6. Aleatorización

Los sujetos han sido aleatoriamente asignados a los grupos de tratamiento, en orden ascendente, según un sistema de distribución equilibrada, a través de una tabla generada por ordenador de números aleatorios realizada por una persona diferente del operador. El método de **ocultación de asignación** seleccionado fue a través de sobre opacos que no permitían ver el contenido al trasluz, sellados y secuencialmente numerados. Fueron desvelados al operador en el momento de comenzar el tratamiento periodontal asignado.

7. Intervención

Los procedimientos han sido realizados en las clínicas del Máster de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UCM, por un operador experimentado.

Intervención

Tratamiento periodontal básico consistente en la realización de dos sesiones de raspado y alisado radicular (RAR) con anestesia local, realizadas en un intervalo de 24 horas. Se prescribe el empleo de un colutorio de clorhexidina 0,12% (PerioAid tratamiento®, Dentaïd, España. Posología: 15ml, 60 segundos, cada 12 horas) durante dos semanas, comenzando desde el primer día de tratamiento.

Grupo control

Tratamiento periodontal consistente en dos sesiones de tartrectomía y profilaxis (T&P) con anestesia según las necesidades del paciente, realizadas en un intervalo de 24 horas. Se prescribe el empleo de un colutorio de fluoruro sódico 0,05% y xylitol 1,00% (Fluor-Aid® 0,05% colutorio diario, Dentaïd, España) durante dos semanas, comenzando desde el primer día de tratamiento.

8. Seguimiento

Todas las mediciones, salvo la historia médica inicial, se realizarán antes del tratamiento, a los 7 días (excepto variables periodontales) y a los 3 y 6 meses después del tratamiento, aunque en este trabajo únicamente se presenten los datos hasta los 3 meses.

9. Recogida de datos

Historia médica

Se obtuvo la historia médica completa de los pacientes antes del comienzo del tratamiento. Se recogieron datos relativos a sexo, edad, cHDL, colesterol total, presión arterial sistólica en reposo, tabaquismo, obesidad (IMC) y circunferencia abdominal, sedentarismo, postmenopausia, historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura, factores psicosociales, triglicéridos, resistencia a la insulina, niveles de homocisteína. Igualmente se registró la ingesta de medicación (tratamientos vasoactivos), enfermedad cardiovascular periférica o ACVA, e información relativa a los antecedentes de angor inestable o infarto (tratamiento recibido, colocación de stent o bypass, número de vasos con obstrucción $\geq 50\%$).

Datos periodontales

Todas las variables clínicas fueron registradas mediante la sonda periodontal UNC-15 (Hu-Friedy® Europa, Rotterdam, Holanda) por un único entrenado calibrado en seis localizaciones por diente, en todos los dientes excepto en los terceros molares. Las variables clínicas registradas fueron:

- **Profundidad de sondaje**, en milímetros, medida desde el margen gingival hasta el fondo de la bolsa periodontal.
- **Recesión** en milímetros, distancia del límite amelocementario al margen gingival.
- **Índice de placa**: presencia/ausencia de placa en cada localización, y después se calculó el porcentaje de localizaciones con placa respecto de las localizaciones presentes totales.
- **Sangrado al sondaje**, expresado como presente/ausente, 30 segundos después del sondaje.
- **Índice de supuración**, explicado como presente/ausente.
- **Movilidad**, en un grado del 0 al 3, siendo 0 ausencia de movilidad, 1 un desplazamiento horizontal menor de 1 mm, 2 un desplazamiento horizontal mayor de 1 mm y 3 con presencia de un desplazamiento horizontal e intrusivo o vertical (Clasificación de Lindhe, 1983).
- **Lesiones de furcación**, 1 correspondiente a 1/3 de pérdida de inserción interradicular, 2 correspondiente a 2/3 de pérdida y 3 cuando la pérdida es completa (Clasificación de Hamp y colaboradores, 1975).
- Número de dientes presentes.
- Grado de pérdida ósea (<30%, 30-50%, >50%) mediante radiografía panorámica.

Variables cardiovasculares

Dos examinadores entrenados y calibrados, pertenecientes al Servicio de Cardiología (Hospital Severo Ochoa de Leganés), realizaron la medición de la vasodilatación endotelial (VDE) de la arteria braquial mediante ultrasonidos (Vivid E9, GE Healthcare) con una sonda lineal de 7 MHz (Sonda 9L General Electrics Medical Systems) y de forma automática (Brachial Tools, versión 3.2.6, Medical ImagingApplications) en respuesta a una presión arterial de 250 mmHg durante 5 minutos ejercida con un esfigmomanómetro. La dilatación se cuantificó como el cambio, expresado en porcentaje (%), desde basal al pico del diámetro entre 45 y 60 segundos tras eliminar la presión.

10. Análisis estadístico

Variables respuesta

- **Primaria**: vasodilatación endotelial en la arteria braquial (porcentaje de cambio en el diámetro de la arteria braquial tras insuflar flujo).
- **Secundarias**: edad, sexo, antecedentes familiares cardiovasculares, índice de masa corporal, colesterol, glucosa, triglicéridos, profundidad de sondaje, recesión, índice de placa, sangrado al sondaje.

Análisis estadístico

Se ha comprobado la distribución de la muestra mediante diagramas de caja y la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (< 30 pacientes).

En caso de obtener una distribución normal se aplica el análisis intergrupo T-Student, si no el test U-Mann Whitney para variables cuantitativas continuas

Se ha empleado el programa estadístico SPSS (v21, IBM), y se ha considerado que los valores de $p < 0,05$ son estadísticamente significativas.

Resultados

Durante 6 meses (febrero de 2016 hasta agosto de 2016) se encontraron 12 pacientes, procedentes del Servicio de Cardiología del Hospital Severo Ochoa de Leganés, que cumplían los criterios de inclusión, por ello, entraron en el ensayo clínico. De estos 12 pacientes, uno no comenzó en ese periodo de tiempo ya que estaba en tratamiento antibiótico. De los 11 pacientes restantes, uno abandonó el estudio justo después de realizar la primera visita, otro únicamente acudió al tratamiento y a las variables cardiovasculares y un último abandonó a los 3 meses.

Datos de la historia médica

La mayoría de los pacientes son hombres (10 de 11 pacientes), exfumadores (7 de 11 pacientes), la totalidad con enfermedades sistémicas asociadas.

Todos los pacientes toman medicación para tratar la enfermedad cardiovascular, en donde destacamos betabloqueantes como atenolol o bisoprolol, adiro y atorvastatina. La mayoría toman también omeprazol como protector gástrico ya que son pacientes polimedicados y enalapril para la hipertensión.

		Test		Control		Total	
Sexo	Femenino	0	(0,00%)	1	(9,09%)	1	(9,09%)
	Masculino	4	(36,36%)	6	(54,55%)	10	(90,91%)
Fumador	Fumador	1	(9,09%)	0	(0,00%)	1	(9,09%)
	No fumador	2	(18,18%)	1	(9,09%)	3	(27,27%)
	Exfumador	1	(9,09%)	6	(54,55%)	7	(63,64%)
Enf sistémicas	Si	4	(36,36%)	7	(63,64%)	11	(100,00%)
	No	0	(0,00%)	0	(0,00%)	0	(0,00%)
Estrés	Si	4	(36,36%)	3	(27,27%)	7	(63,64%)
	No	0	(0,00%)	4	(36,36%)	4	(36,36%)
Alergias	Si	2	(18,18%)	2	(18,18%)	4	(36,36%)

	No	2	(18,18%)	5	(45,45%)	7	(63,64%)
Sedentarismo	Si	4	(36,36%)	3	(27,27%)	7	(63,64%)
	No	0	(0,00%)	4	(36,36%)	4	(36,36%)
Postmenopausia	Si	0	(0,00%)	1	(9,09%)	1	(9,09%)
	No	4	(36,36%)	6	(54,55%)	10	(90,91%)
Hª familiar ECV	Si	4	(36,36%)	3	(27,27%)	7	(63,64%)
	No	0	(0,00%)	4	(36,36%)	4	(36,36%)

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las distintas variables cuantitativa recogidas en la historia clínica. La edad media de los participantes es avanzada en ambos grupos (58 años en el grupo test y 56 años en el grupo control). Por otro lado, se aprecian elevados niveles de colesterol en ambos grupos, y de HDL y triglicéridos en el grupo test. El índice de masa corporal indica cierto grado de sobrepeso en el grupo test y obesidad en el grupo control.

					Diferencia test - control		
	Grupo	n	Media	SD	Diferencia de medias	Intervalo de Confianza 95% para la diferencia	p
Edad (años)	Control	7	58,316	17,440	2,009	-19,895	23,913
	Test	4	56,307	10,375			
Colesterol	Control	7	144,860	52,648	5,607	-57,214	68,429
	Test	4	139,250	18,590			
HDL	Control	7	40,000	10,165	5,250	-7,939	18,439
	Test	4	34,750	7,274			
Triglicéridos	Control	7	97,860	42,125	-71,143	-145,520	3,234
	Test	4	169,000	68,600			
Peso	Control	4	101,350	26,372	27,350	-14,031	68,731
	Test	3	74,000	8,205			
Altura	Control	5	1,772	0,080	0,105	-0,034	0,244
	Test	3	1,666	0,072			
Índice de masa corporal	Control	4	31,098	6,881	4,500	-6,174	15,174
	Test	3	26,598	1,693			
Circunferencia Abdominal	Control	5	112,800	19,854	17,800	-21,913	57,513
	Test	2	95,000	11,314			

Datos cardiovasculares

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la vasodilatación endotelial, entre el grupo test y el grupo control, tanto en la visita basal como en la revisión de los 3 meses, ni en la variable cambio entre visita basal y 3 meses. Sin embargo, si se aprecia un incremento de la vasodilatación en el grupo test, mientras que en el grupo control se ve una pequeña reducción, por lo cual se intuye que la respuesta al tratamiento es mejor en el grupo test.

						Diferencia test - control				
% VDE	Visita	Grupo	n	Media	SD	Diferencia de medias	Intervalo de Confianza 95% para la diferencia		p	
	Basal	Control	7	17,41	10,39	5,75	-4,94	16,43	0,25	
		Test	4	11,66	5,23					
		3 meses	Control	5	12,53	8,93	-0,53	-12,73	11,66	0,92
			Test	4	13,06	5,62				

Variación %VDE (%VDE3m-%VDE1v)					Diferencia test - control			
	Grupo	n	Media	SD	Diferencia de medias	Intervalo de Confianza 95% para la diferencia		p
	Control	5	-8,80	9,04	-10,20	-23,52	3,12	0,11
Test	4	1,40	7,46					

Datos periodontales

En ambos grupos se redujo el índice de placa, en relación con la visita inicial. La reducción fue mayor en el grupo test, observándose diferencias estadísticamente significativa, entre ambos grupos, al mes como a los 3 meses.

La media de la profundidad de sondaje fue mayor en el grupo control en la primera visita, de forma estadísticamente significativa. En ambos grupos se produjo una reducción de la profundidad de sondaje, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre grupos al mes y los 3 meses.

El sangrado al sondaje, también se redujo en ambos grupos, en todas las visitas, observándose diferencias significativas, solamente en la visita de los 3 meses.

Todos los parámetros clínicos periodontales, mejoraron con el tratamiento periodontal, no obstante, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a recesión, nivel de inserción y supuración, en ninguna de las visitas, entre los grupos de tratamiento.

						Diferencia test - control			
	Visita	Grupo	n	Media	SD	Diferencia de medias	Intervalo de Confianza 95% para la diferencia		p
Índice de Placa	Basal	Control	7	0,83	0,156	0,250	-0,196	0,696	0,194
		Test	4	0,58	0,297				
	1 mes	Control	6	0,614	0,256	0,395	0,028	0,761	0,038
		Test	3	0,22	0,059				
	3 meses	Control	5	0,624	0,146	0,429	0,199	0,659	0,004
		Test	3	0,195	0,083				
Recesión	Basal	Control	7	1,067	1,073	0,662	-0,595	1,918	0,264
		Test	4	0,406	0,221				
	1 mes	Control	6	1,496	0,913	0,478	-0,840	1,796	0,420
		Test	3	1,018	0,302				
	3 meses	Control	5	1,267	1,090	0,530	-1,064	2,125	0,447
		Test	3	0,737	0,106				
Profundidad de sondaje	Basal	Control	7	4,326	0,619	0,041	0,038	1,509	0,041
		Test	4	3,552	0,2				
	1 mes	Control	6	3,607	0,804	0,860	-0,294	2,013	0,121
		Test	3	2,747	0,221				
	3 meses	Control	5	3,653	0,656	0,862	-0,219	1,943	0,099
		Test	3	2,791	0,488				
Sangrado	Basal	Control	7	0,680	0,212	0,207	-0,045	0,458	0,096
		Test	4	0,473	0,068				
	1 mes	Control	6	0,597	0,248	0,284	-0,087	0,654	0,113
		Test	3	0,313	0,137				
	3 meses	Control	5	0,602	0,108	0,305	0,065	0,545	0,021
		Test	3	0,297	0,175				
Nivel de inserción	Basal	Control	7	5,390	1,651	1,449	-0,481	3,379	0,124
		Test	4	3,941	0,327				
	1 mes	Control	6	5,103	1,685	1,338	-1,071	3,746	0,230
		Test	3	3,765	0,406				
	3 meses	Control	5	4,780	1,797	1,323	-1,314	3,961	0,266
		Test	3	3,457	0,274				
Supuración	Basal	Control	7	0,157	0,270	0,012	-0,013	0,038	0,283
		Test	4	0,003	0,004				

	1 mes	Control	6	0,017	0,017	0,002	-0,027	0,032	0,848
		Test	3	0,015	0,026				
	3 meses	Control	5	0,015	0,025	0,010	-0,027	0,048	0,525
		Test	3	0,004	0,004				

En cuanto a los cambios entre la visita basal y la visita a los tres meses, se observa una mejoría en todos los parámetros clínicos, pero no encontramos diferencias estadísticamente significativas en las variables analizadas entre los grupos.

	Grupo	n	Media	SD	Diferencia test - control			
					Diferencia de medias	Intervalo de Confianza 95% para la diferencia	p	
Cambio nivel de inserción (basal-3meses)	Control	5	-,841	,460	-,282	-,961	,397	,348
	Test	3	-,559	,097				
Variación sangrado	Control	5	-,193	,094	-,048	-,295	,199	,653
	Test	3	-,146	,199				
Variación índice placa	Control	5	-,221	,144	,078	-,228	,383	,557
	Test	3	-,299	,215				
Variación profundidad sondaje	Control	5	2,808	,565	,511	-,379	1,400	,209
	Test	3	2,297	,324				
Variación recesión	Control	5	,094	,315	-,203	-,791	,385	,430
	Test	3	,297	,357				
Variación supuración	Control	5	-,007	,023	-,010	-,043	,024	,513
	Test	3	,002	,004				

Discusión

El objetivo de este estudio fue investigar si el tratamiento periodontal básico dirigido a reducir los niveles de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* a nivel subgingival mejora la disfunción endotelial en pacientes con enfermedad cardiovascular establecida.

En este estudio piloto de 3 meses de seguimiento, se observa que los pacientes con periodontitis moderada-avanzada sometidos a un tratamiento periodontal básico experimentan una mejora de la función endotelial a los 3 meses post-tratamiento. Sin embargo, no encontramos diferencias en la vasodilatación endotelial entre los pacientes tratados con tartrectomía, respecto de aquellos sometidos a raspado y alisado radicular y colutorio de clorhexidina 0,12%, aunque si vemos una tendencia a la mejoría en este último grupo. Esto puede ser debido a las limitaciones de este estudio piloto, relacionadas con el pequeño tamaño de la muestra, así como al reducido periodo de seguimiento (3

meses). En otros estudios se encuentran las mayores diferencias en la dilatación de la arteria braquial en la revisión de los 6 meses post-tratamiento, con un tamaño muestral de 120 pacientes (61 pacientes en el grupo test) (28).

Además, podemos ver una gran diferencia en los valores de la vasodilatación braquial mediada por flujo entre unos estudios y otros, variando desde -0,53 en este estudio a -12,48 en el estudio de Blum et al. 2007, posiblemente debido a la gran heterogeneidad metodológica de los estudios (tamaño muestral, criterios de selección, protocolo de tratamiento...). (47,58)

Este estudio piloto se ve limitado por las diferencias existentes entre ambos grupos en la visita basal con respecto a la profundidad de sondaje, siendo mayor en el grupo control respecto el grupo test, probablemente debido a las diferencias en el tamaño muestral entre ambos grupos.

Vemos una tendencia a la mejoría en las variables periodontales en ambos tratamientos, aunque no haya diferencias estadísticamente significativas. Esto puede ser debido al efecto Hawthorne, el cual sesga los resultados por la motivación que presentan los pacientes en los primeros meses, por el mero hecho de verse participando en una investigación. Este es un estudio piloto, pero el seguimiento del estudio principal es mayor (6 meses) para evitar este efecto.

La enfermedad periodontal y la enfermedad cardiovascular han sido ampliamente investigadas y relacionadas, estableciéndose evidencia de que la periodontitis puede aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, son necesarios más estudios para establecer el impacto del tratamiento periodontal en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. (42)

Sería conveniente establecer un criterio unificado para los posteriores estudios a la hora de clasificar la enfermedad periodontal y un procedimiento estándar para medir la vasodilatación endotelial. Existen estudios que obtienen distintos resultados dependiendo si miden la disfunción endotelial mediante la vasodilatación de la arteria braquial) en respuesta a una presión arterial de 250 mmHg durante 5 minutos respecto aquellos casos en los que lo hicieron mediante la administración de nitroglicerina sublingual (22). Asimismo, observamos una falta de un criterio unificado para la definición de la enfermedad periodontal, ya en los distintos estudios analizados podemos ver distintas formas de severidad y extensión de la periodontitis, algunos incluso sin diferenciar entre periodontitis crónica y periodontitis agresiva (47).

Conclusiones

Teniendo en cuenta las limitaciones del presente trabajar, se puede concluir que:

- El tratamiento periodontal básico produce una mejoría no significativa en la función cardiovascular en pacientes con enfermedad cardiovascular establecida.

- El tratamiento periodontal básico no ha mejorado los parámetros clínicos periodontales de los pacientes en comparación con el grupo control, posiblemente debido al corto periodo de seguimiento.

Bibliografía

1. Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect.* 2007 Oct;13 Suppl 4:3–10.
2. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim).* Qassim University; 2017 Apr;11(2):72–80.
3. Sanz M, Kornman K, Working group 3 of joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol.* 2013 Apr;40 Suppl 14(s14):S164–9.
4. Chapple ILC, Genco R, Working group 2 of joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol.* 2013 Apr;40 Suppl 14(s14):S106–12.
5. Flemmig TF. Periodontitis. 1999. pp. 32–8.
6. König J, Holtfreter B, Kocher T. Periodontal health in Europe: future trends based on treatment needs and the provision of periodontal services--position paper 1. *Eur J Dent Educ.* Blackwell Publishing Ltd; 2010 May;14 Suppl 1(Suppl. 6):4–24.
7. Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology.* 1999 Dec;4(1):1–6.
8. Lang N, Bartold PM, Cullinan M, Jeffcoat M, Mombelli A, Murakami S, et al. Consensus Report: Aggressive Periodontitis. *Annals of Periodontology.* 1999 Dec;4(1):53–3.
9. Lindhe J. Consensus Report: Chronic Periodontitis. *Annals of Periodontology.* 4(1):38.
10. Tonetti MS, Jepsen S, Jin L, Otomo-Corgel J. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *J Clin Periodontol.* 2017 May;44(5):456–62.
11. Carasol M, Llodra JC, Fernández-Meseguer A, Bravo M, García-Margallo MT, Calvo-Bonacho E, et al. Periodontal conditions among employed adults in Spain. *J Clin Periodontol.* 4 ed. 2016 Jul;43(7):548–56.
12. Llodra JC. **Encuesta de Salud Oral en España 2010.** rcoe. 2012 ed. 17:13–41.

13. Lang NP, Lindhe J. Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 2 Volume Set. John Wiley & Sons; 2015. 1 p.
14. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *Journal of Periodontology*. American Academy of Periodontology; 2008 Aug;79(8 Suppl):1560–8.
15. Dietrich T, Webb I, Stenhouse L, Pattni A, Ready D, Wanyonyi KL, et al. Evidence summary: the relationship between oral and cardiovascular disease. *British Dental Journal*. Nature Publishing Group; 2017 Mar 10;222(5):381–5.
16. Banegas JR, Villar F, Graciani A, Rodríguez-Artalejo F. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares en España. *Revista Española de Cardiología Suplementos*. 2006 Jan;6(7):3G–12G.
17. Huck O, Saadi-Thiers K, Tenenbaum H, Davideau J-L, Romagna C, Laurent Y, et al. Evaluating periodontal risk for patients at risk of or suffering from atherosclerosis: recent biological hypotheses and therapeutic consequences. *Arch Cardiovasc Dis*. 2011 May;104(5):352–8.
18. Libby P. Inflammation in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Lippincott Williams & Wilkins; 2012 Sep 1;32(9):2045–51.
19. Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME, et al. Periodontal Disease and Atherosclerotic Vascular Disease: Does the Evidence Support an Independent Association? *Circulation*. American Heart Association, Inc; 2012 May 22;125(20):2520–44.
20. Bouchard P, Boutouyrie P, D'Aiuto F, Deanfield J, Deliargyris E, Fernandez-Avilés F, et al. European workshop in periodontal health and cardiovascular disease consensus document. *European Heart Journal Supplements*. The Oxford University Press; 2010 Apr 1;12(suppl B):B13–B22.
21. Reyes L, Herrera D, Kozarov E, Roldán S, Progulske-Fox A. Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology. *J Clin Periodontol*. 2013 Apr;40 Suppl 14(s14):S30–50.
22. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *Journal of Dental Research*. SAGE Publications; 2010 Nov;89(11):1241–6.
23. Horliana ACRT, Chambrone L, Foz AM, Artese HPC, Rabelo M de S, Pannuti CM, et al. Dissemination of periodontal pathogens in the bloodstream after periodontal procedures: a systematic review. Glogauer M, editor. *PLoS ONE*. Public Library of Science; 2014;9(5):e98271.

24. Gurav AN. The implication of periodontitis in vascular endothelial dysfunction. *European Journal of Clinical Investigation*. 2014 Oct 1;44(10):1000–9.
25. Figuero E, Sánchez-Beltrán M, Cuesta-Frechoso S, Tejerina JM, del Castro JA, Gutiérrez JM, et al. Detection of Periodontal Bacteria in Atheromatous Plaque by Nested Polymerase Chain Reaction. <http://dxdoiorg/101902/jop2011100719>. *American Academy of Periodontology*; 2011 Sep 30;82(10):1469–77.
26. Figuero E, Lindahl C, Marín MJ, Renvert S, Herrera D, Ohlsson O, et al. Quantification of periodontal pathogens in vascular, blood, and subgingival samples from patients with peripheral arterial disease or abdominal aortic aneurysms. *Journal of Periodontology*. *American Academy of Periodontology*; 2014 Sep;85(9):1182–93.
27. Mustapha IZ, Debrey S, Oladubu M, Ugarte R. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology*. 2007 Dec;78(12):2289–302.
28. Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med*. 2007 Mar 1;356(9):911–20.
29. Joshipura KJ, Rimm EB, Douglass CW, Trichopoulos D, Ascherio A, Willett WC. Poor oral health and coronary heart disease. *Journal of Dental Research*. SAGE PublicationsSage CA: Los Angeles, CA; 1996 Sep;75(9):1631–6.
30. Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesäniemi YA, Syrjälä SL, et al. Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ*. British Medical Journal Publishing Group; 1989 Mar 25;298(6676):779–81.
31. DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *BMJ*. BMJ Publishing Group; 1993 Mar 13;306(6879):688–91.
32. Çalapkorur MU, Alkan BA, Tasdemir Z, Akcali Y, Saatçi E. Association of peripheral arterial disease with periodontal disease: analysis of inflammatory cytokines and an acute phase protein in gingival crevicular fluid and serum. *Journal of Periodontal Research*. 2017 Jun;52(3):532–9.
33. Li L, Messas E, Batista EL, Levine RA, Amar S. *Porphyromonas gingivalis* infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterozygous apolipoprotein E-deficient murine model. *Circulation*. 2002 Feb 19;105(7):861–7.

34. Lalla E, Lamster IB, Hofmann MA, Bucciarelli L, Jerud AP, Tucker S, et al. Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* American Heart Association, Inc; 2003 Aug 1;23(8):1405–11.
35. Gibson FC, Hong C, Chou H-H, Yumoto H, Chen J, Lien E, et al. Innate immune recognition of invasive bacteria accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* American Heart Association, Inc; 2004 Jun 8;109(22):2801–6.
36. Brodala N, Merricks EP, Bellinger DA, Damrongsri D, Offenbacher S, Beck J, et al. *Porphyromonas gingivalis* bacteremia induces coronary and aortic atherosclerosis in normocholesterolemic and hypercholesterolemic pigs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* American Heart Association, Inc; 2005 Jul;25(7):1446–51.
37. Chou H-H, Yumoto H, Davey M, Takahashi Y, Miyamoto T, Gibson FC, et al. *Porphyromonas gingivalis* fimbria-dependent activation of inflammatory genes in human aortic endothelial cells. *Infect Immun.* American Society for Microbiology; 2005 Sep;73(9):5367–78.
38. Bahekar AA, Singh S, Saha S, Molnar J, Arora R. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis. *Am Heart J.* Elsevier; 2007 Nov;154(5):830–7.
39. Humphrey LL, Fu R, Buckley DI, Freeman M, Helfand M. Periodontal Disease and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. *J GEN INTERN MED.* Springer-Verlag; 2008;23(12):2079–86.
40. Blaizot A, Vergnes J-N, Nuwwareh S, Amar J, Sixou M. Periodontal diseases and cardiovascular events: meta- analysis of observational studies. *Int Dent J.* Blackwell Publishing Ltd; 2009 Aug 1;59(4):197–209.
41. Zeng X-T, Leng W-D, Lam Y-Y, Yan BP, Wei X-M, Weng H, et al. Periodontal disease and carotid atherosclerosis: A meta-analysis of 17,330 participants. *Int J Cardiol.* 2016 Jan 15;203:1044–51.
42. Tonetti MS, Van Dyke TE, Working group 1 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol.* 2013 Apr;40 Suppl 14(s14):S24–9.
43. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000.* Blackwell Publishing Ltd; 2013 Jun 1;62(1):59–94.

44. Yeboah J, Crouse JR, Hsu F-C, Burke GL, Herrington DM. Brachial Flow-Mediated Dilation Predicts Incident Cardiovascular Events in Older Adults. *Circulation. American Heart Association Journals*; 2007 May 8;115(18):2390–7.
45. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial Function and Dysfunction. *Circulation. American Heart Association Journals*; 2007 Mar 13;115(10):1285–95.
46. Elter JR, Hinderliter AL, Offenbacher S, Beck JD, Caughey M, Brodala N, et al. The effects of periodontal therapy on vascular endothelial function: a pilot trial. *Am Heart J*. 2006 Jan;151(1):47.
47. Orlandi M, Suvan J, Petrie A, Donos N, Masi S, Hingorani A, et al. Association between periodontal disease and its treatment, flow-mediated dilatation and carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis. Elsevier*; 2014 Sep;236(1):39–46.
48. Napoli C, Pignatelli O, de Nigris F, Sica V. Childhood infection and endothelial dysfunction: a potential link in atherosclerosis? *Circulation. American Heart Association Journals*; 2005 Apr 5;111(13):1568–70.
49. Seino G, Wimmer G, Skerget M, Thaller E, Brodmann M, Gasser R, et al. Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis. *Am Heart J*. 2005 Jun;149(6):1050–4.
50. Peter Libby MD. *Braunwald Tratado de Cardiologia / Braunwald's Heart Disease*. Harcourt Brace De Espana Sa; 2012. 1 p.
51. Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol*. 2002 May;29 Suppl 2:6–16.
52. Van der Weijden GA, Timmerman MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002;29 Suppl 3:55–71–discussion90–1.
53. Quirynen M, Bollen CM, Vandekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *Journal of Dental Research. SAGE PublicationsSage CA: Los Angeles, CA*; 1995 Aug;74(8):1459–67.
54. Sanz M, Teughels W, Group A of European Workshop on Periodontology. Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Blackwell Publishing Ltd*; 2008. pp. 3–7.

55. Feres M, Gursky LC, Faveri M, Tsuzuki CO, Figueiredo LC. Clinical and microbiological benefits of strict supragingival plaque control as part of the active phase of periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. Blackwell Publishing Ltd; 2009 Oct;36(10):857–67.
56. Heitz-Mayfield LJA, Trombelli L, Heitz F, Needleman I, Moles D. A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002;29 Suppl 3:92–102–discussion160–2.
57. Offenbacher S, Beck JD, Moss K, Mendoza L, Paquette DW, Barrow DA, et al. Results from the Periodontitis and Vascular Events (PAVE) Study: a pilot multicentered, randomized, controlled trial to study effects of periodontal therapy in a secondary prevention model of cardiovascular disease. *Journal of Periodontology*. 2009 Feb;80(2):190–201.
58. Blum A, Kryuger K, Mashiach Eizenberg M, Tatour S, Vigder F, Laster Z, et al. Periodontal care may improve endothelial function. *Eur J Intern Med*. 2007 Jul;18(4):295–8.